





# Object illumination system used in confocal fluorescence scanning microscopy, includes component varying illumination intensity and shape

**Patent number:** DE10012462  
**Publication date:** 2001-09-20  
**Inventor:** HOFFMANN JUERGEN (DE)  
**Applicant:** LEICA MICROSYSTEMS (DE)  
**Classification:**  
 - international: **G02B21/00; G02B21/00; (IPC1-7): G02B21/00**  
 - european: **G02B21/00M4A3; G02B21/00M4A7C; G02B21/00M4A7P; G02B21/00M4A7U**  
**Application number:** DE20001012462 20000315  
**Priority number(s):** DE20001012462 20000315

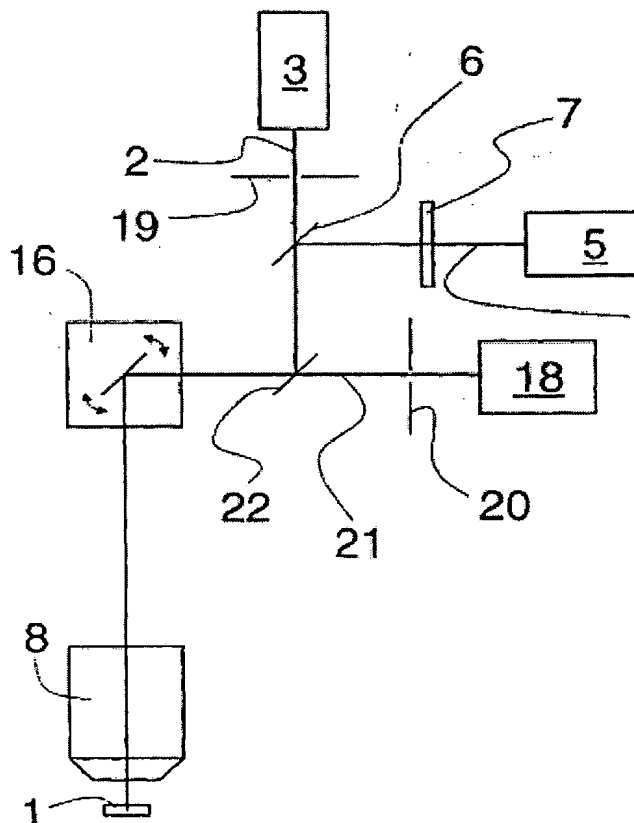
## Also published as:

 US6555826 (B2)  
 US2001042837 (A)  
 JP2001290081 (A)  
 GB2366393 (A)

[Report a data error here](#)

## Abstract of DE10012462

An optical component (7) is placed in one or more illumination beam paths (2, 4). This varies the light. Optical characteristics of the component (7) can be influenced or varied, to change the illumination pattern of the beam path, altering its shape in the object (1) region.



Data supplied from the esp@cenet database - Worldwide



19 BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENT- UND  
MARKENAMT

12 Offenlegungsschrift  
10 DE 100 12 462 A 1

51 Int. Cl.<sup>7</sup>:  
G 02 B 21/00

21 Aktenzeichen: 100 12 462.3  
22 Anmeldetag: 15. 3. 2000  
43 Offenlegungstag: 20. 9. 2001

DE 100 12 462 A 1

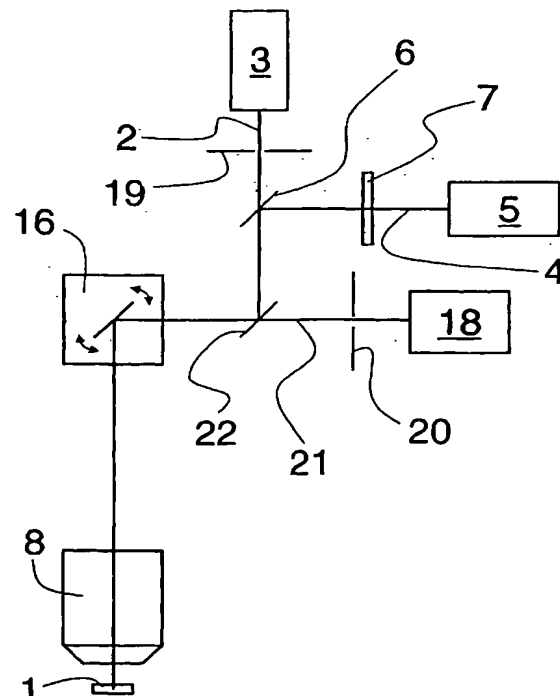
71 Anmelder:  
Leica Microsystems Heidelberg GmbH, 69120  
Heidelberg, DE  
  
74 Vertreter:  
Ullrich & Naumann, 69115 Heidelberg

72 Erfinder:  
Hoffmann, Jürgen, Dr., 65191 Wiesbaden, DE

Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen

54 Vorrichtung zur Beleuchtung eines Objekts

57 Die vorliegende Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur Beleuchtung eines Objekts (1), vorzugsweise bei der konfokalen Fluoreszenz-Rastermikroskopie, mit einem Beleuchtungsstrahlengang (4) einer weiteren Lichtquelle (5), wobei die Beleuchtungsstrahlengänge (2, 4) zumindest teilweise einander überlagerbar sind und ist zur Vereinfachung der Justierung sowie zur Reduktion der optischen Bauteile im Beleuchtungsstrahlengang dadurch gekennzeichnet, dass mindestens in einem der Beleuchtungsstrahlengänge (2, 4) mindestens ein optisches Bauteil (7) angeordnet ist und das Licht verändert, und dass die optischen Eigenschaften des Bauteils derart beeinflussbar bzw. veränderbar sind, dass sich das Beleuchtungsmuster des Beleuchtungsstrahlengangs (2, 4) im Objektbereich in seiner Form verändert.



DE 100 12 462 A 1

Die vorliegende Erfindung betrifft eine Vorrichtung zur Beleuchtung eines Objekts, vorzugsweise bei der konfokalen Fluoreszenz-Rastermikroskopie, mit einem Beleuchtungsstrahlengang einer Lichtquelle und mindestens einem weiteren Beleuchtungsstrahlengang einer weiteren Lichtquelle, wobei die Beleuchtungsstrahlengänge zumindest teilweise einander überlagerbar sind.

Vorrichtungen der gattungsbildenden Art sind insbesondere bei der konfokalen Fluoreszenz-Rastermikroskopie aus der WO 95 21 393 bekannt. Bei dieser Vorrichtung wird zur Erhöhung der lateralen Auflösung ein Probenpunkt mit einem Anregungslichtstrahl beleuchtet, wodurch die hierdurch mit Anregungslicht beaufschlagten Fluoreszenzmoleküle in einen angeregten Zustand versetzt werden. Der Probenpunkt wird darüber hinaus mit einem Stimulationslichtstrahl geeigneter Wellenlänge beleuchtet, wodurch Fluoreszenzmoleküle, die sich im angeregten Zustand befinden, durch den Prozess der stimulierten Emission wieder in den Grundzustand versetzten lassen. Der Anregungslichtstrahl und der Stimulationslichtstrahl sind hierbei derart angeordnet, dass ihre Intensitätsverteilungen bzw. Beleuchtungsmuster im Objektbereich sich teilweise überdecken. Die in dem Überdeckungsbereich liegenden Fluoreszenzmoleküle werden nach der Anregung mit dem Anregungslichtstrahl durch stimulierte Emission sofort in den Grundzustand überführt, so dass Fluoreszenzlicht nur von den Fluoreszenzmolekülen detektiert wird, die sich im Beleuchtungsmuster des Anregungsstrahls jedoch nicht im Beleuchtungsmuster des Stimulationsstrahls bzw. im Überdeckungsbereich der beiden Beleuchtungsmuster befinden. Das stimulierte Emissionslicht bzw. das reflektierte Stimulationslicht wird mit Hilfe von optischen Filtern aus dem Detektionsstrahlengang des Rastermikroskops ausgefiltert, so dass lediglich Fluoreszenzlicht aus dem Bereich des Beleuchtungsmusters des Anregungsstrahls detektiert wird der um den Überdeckungsbereich der beiden Beleuchtungsmuster reduziert ist. Diese Reduktion ermöglicht die Verkleinerung des zur Fluoreszenzemission beitragenden Objektbereichs unterhalb der Grenzen der beugungsbegrenzten Abbildung, und stellt somit eine Auflösungsverbesserung dar.

Bei den bekannten gattungsbildenden Vorrichtungen ist die Justierung des Anregungs- und des Stimulationslichtstrahls problematisch, da beide Lichtstrahlen räumlich wohl definiert zueinander angeordnet sein müssen. Die einzelnen optischen Komponenten werden hierzu manuell oder motorisch positioniert, was insbesondere im Hinblick auf die Langzeitstabilität mit hohem konstruktiven Aufwand verbunden ist.

Auch die auf Temperaturänderung beruhende Längenausdehnung der optischen Gesamtanordnung ist ebenfalls zu kompensieren. In Abhängigkeit der zu erzeugenden Form des Beleuchtungsmusters des Stimulationslichtstrahls kann es erforderlich sein, dass mehrere optische Bauteile zum Einsatz kommen, was die Anzahl der Justierungsfreiheitsgrade nachteilig erhöht.

Der vorliegenden Erfindung liegt daher die Aufgabe zugrunde, eine Vorrichtung zur Beleuchtung eines Objekts auszugestalten und weiterzubilden, bei der die Justierung vereinfacht werden und die Anzahl der optischen Bauteile pro Stimulationsstrahlengang reduziert werden kann.

Die erfindungsgemäße Vorrichtung zur Beleuchtung eines Objekts löst die voranstehende Aufgabe durch die Merkmale des Patentanspruchs 1. Danach ist eine gattungsgemäße Vorrichtung dadurch gekennzeichnet, dass mindestens in einem der Beleuchtungsstrahlengänge mindestens ein optisches Bauteil angeordnet ist und das Licht verändert,

und dass die optischen Eigenschaften des Bauteils derart beeinflussbar bzw. veränderbar sind, dass sich das Beleuchtungsmuster des Beleuchtungsstrahlengangs im Objektbereich in seiner Form verändert.

- 5 Erfindungsgemäß ist zunächst erkannt worden, dass die Justierung des optischen Bauteils dadurch vereinfacht werden kann, dass das optische Bauteil in seiner optischen Eigenschaft beeinflussbar bzw. veränderbar ist. Wenn die optische Eigenschaft des Bauteils verändert wird, verändert das Bauteil das Licht des entsprechenden Beleuchtungsstrahlengangs und somit das Beleuchtungsmuster im Objektbereich. Hierdurch kann das Beleuchtungsmuster dieses Beleuchtungsstrahlengangs relativ zu dem eines anderen Beleuchtungsstrahlengangs in seiner Form und/oder in seiner räumlichen Lage verändert werden, wodurch die Beleuchtungsstrahlengänge sich zueinander justieren lassen.

In vorteilhafter Weise kann – vergleichbar zur Justierung – durch die Veränderung der optischen Eigenschaft des Bauteils ein Temperaturdrift des Geräts ausgeglichen werden, so dass jederzeit wohl definierte und optimale Beleuchtungs- bzw. Detektionsbedingungen vorliegen. Im Idealfall kann durch die Verwendung eines in seiner optischen Eigenschaft veränderbaren Bauteils auf eine konstruktiv aufwendige Justier- und Driftkompensationsvorrichtung verzichtet werden, wodurch sich in besonders vorteilhafter Weise der optische Strahlengang vereinfacht und darüber hinaus die Herstellungskosten reduzieren.

Auch kann durch das in seiner optischen Eigenschaft veränderbare optische Bauteil durch entsprechende Strahlbeeinflussung bzw. -veränderung die gleiche Wirkung erzielt werden wie mit mehreren einzelnen optischen Bauteilen, so dass die Anzahl der optischen Bauteile reduziert werden kann.

Ein optisches Bauteil ist vorzugsweise im weiteren Beleuchtungsstrahlengang angeordnet. Dementsprechend wirkt dieses lediglich auf den weiteren Beleuchtungsstrahlengang, so dass hierdurch die Form des Beleuchtungsmusters des weiteren Beleuchtungsstrahlengangs im Objektbereich verändert wird. Der weitere Beleuchtungsstrahlengang könnte hierbei als Stimulationslichtstrahl verwendet werden.

Ein optisches Bauteil könnte auch im Beleuchtungs- und/oder im Detektionsstrahlengang angeordnet sein. Hierdurch wird die Form des Beleuchtungsmusters des Beleuchtungsstrahlengangs im Objektbereich bzw. die Form des für den Detektor detektierbaren Detektionsmusters des Objektbereichs verändert. Auch eine kombinierte Anordnung von mehreren optischen Bauteilen in den Beleuchtungs- bzw. dem Detektionsstrahlengang ist denkbar. Hierdurch könnte beispielsweise mit einem im weiteren Beleuchtungsstrahlengang angeordneten optischen Bauteil das Beleuchtungsmuster des weiteren Beleuchtungsstrahlengangs im Objektbereich asymmetrisch geformt und durch die Anordnung eines weiteren optischen Bauteils im Beleuchtungsstrahlengang das Beleuchtungsmuster des Beleuchtungsstrahlengangs im Objektbereich spiegelsymmetrisch zum weiteren Beleuchtungsmuster ausgebildet werden. Diese Vorgehensweise könnte zur Abrasterung des Objekts mit einem anisotropen oder hexagonalen Pixelmuster dienen.

In einer besonders bevorzugten Ausführungsform ist das optische Bauteil in einer zur Fokusebene des Objektivs konjugierten Fourierebene angeordnet. Hierdurch kann bei entsprechender Ausgestaltung des optischen Bauteils nach den Prinzipien der Fourieroptik auf alle Ortsfrequenzen in gleicher Weise oder unterschiedlich gewirkt werden.

In einer konkreten Ausführungsform verändert das optische Bauteil die Phase des Lichts. Alternativ hierzu könnte die Amplitude oder die Polarisierung des Lichts verändert

werden. Auch eine Kombination der Veränderung der Phase, der Amplitude oder der Polarisation des Lichts durch das optische Bauteil ist denkbar.

Das optische Bauteil könnte als durchleuchtendes oder als reflektierendes Bauteil in dem ihm zugeordneten Strahlengang ausgeführt sein:

Zur Veränderung der optischen Eigenschaft des Bauteils ist dieses als adaptive Optik ausgeführt. Es kann auf den gesamten Lichtstrahl in gleicher Weise oder lokal unterschiedlich wirken.

Im Konkreten könnte das optische Bauteil als LCD (Liquid Crystal Device) ausgeführt sein. Durch geeignete Beschaltung des LCD-Elements kann pixelweise die Phase des auftreffenden Lichts verzögert und/oder die Amplitude des auftreffenden Lichts reduziert werden. Da bei einem LCD-Element jedes einzelne Pixel direkt ansteuerbar ist, ist diese Anordnung in besonders vorteilhafter Weise sehr flexibel und gestattet auch eine Veränderung der optischen Eigenschaften des Bauteils während des Betriebs.

In einer weiteren Ausführungsform ist das optische Bauteil als Farb-LCD ausgeführt. Dies ist insbesondere dann von großem Vorteil, wenn das Farb-LCD-Element in einem Strahlengang angeordnet ist, in dem Licht unterschiedlicher Wellenlängen verläuft. Durch entsprechende Einstellung des Farb-LCD-Elements kann dieses pixelweise chromatisch selektiv auf Licht einer oder mehrerer Wellenlängen wirken.

Ganz allgemein könnte das optische Bauteil als mikromechanisches System ausgeführt sein. Insbesondere könnte das optische Bauteil als DMD (Digital Micro Mirror) oder als GLV (Grating Light Valve) ausgeführt sein. Auch diese optischen Bauteile können pixelweise angesteuert werden, so dass einzelne Bereiche aus dem entsprechenden Strahlengang herausreflektiert bzw. beeinflusst werden können. Alternativ hierzu könnte ein deformierbarer Spiegel als optisches Bauteil verwendet werden. Einzelne Bereiche des deformierbaren Spiegels lassen sich in ihrer Oberflächenform verändern, so dass sich das Beleuchtungs- bzw. das Detektionsmuster des entsprechenden Strahlengangs in seiner Form verändert.

In besonders vorteilhafter Weise ist die Veränderung der optischen Eigenschaften des optischen Bauteils mit vorgebaren Ereignissen synchronisierbar. So könnte beispielsweise das optische Bauteil mit der Intensitätsmodulation bzw. der Pulsfolge der Lichtquelle synchronisiert werden. Eine Synchronisation der Scaneinrichtung des Rastermikroskops mit dem optischen Bauteil könnte in vorteilhafter Weise zur Kompensation von chromatischen Quer- bzw. Längsfehlern der verwendeten Optik des Rastermikroskops dienen, die eine laterale bzw. axiale Abhängigkeit des jeweiligen Beleuchtungspunkts aufweisen kann. Darüber hinaus kann zur Optimierung der Signalausbeute eine Synchronisation der Detektoreinrichtung mit der Veränderung der optischen Eigenschaft des Bauteils vorgesehen sein.

Das optische Bauteil kann auf den gesamten Strahlengang oder auf einen Teil des Strahlengangs wirken. Vorzugsweise ist das optische Bauteil derart dimensioniert, dass es größer als der Querschnitt des mit ihm wechselwirkenden Strahlengangs ist, so dass das optische Bauteil auf den gesamten Beleuchtungsstrahlengang wirkt. Alternativ hierzu wäre jedoch der umgekehrte Fall denkbar, nämlich dass der Querschnitt des Strahlengangs größer als die Dimension des optischen Bauteils ist.

Mit Hilfe des optischen Bauteils kann das Beleuchtungsmuster des Beleuchtungsstrahlengangs und/oder des weiteren Beleuchtungsstrahlengangs definiert geformt werden. Insbesondere könnte ein torusförmiges Beleuchtungsmuster des weiteren Beleuchtungsstrahlengangs zur Erhöhung der

lateralen Auflösung äußerst vorteilhaft sein, wenn der Torus in der Fokalebene des Objektivs lokalisiert ist und symmetrisch zum Beleuchtungsmuster des Beleuchtungsstrahlengangs angeordnet ist. Hierdurch können die im Überdeckungsbereich der beiden Beleuchtungsmuster angeregten Fluoreszenzmoleküle zur stimulierten Emission angeregt werden, so dass bei geeigneter Detektion nur Fluoreszenzlicht aus dem um den Überdeckungsbereich reduzierten Bereich des Beleuchtungsmusters detektierbar ist. Zusätzlich könnte ein im Beleuchtungsstrahlengang angeordnetes optisches Bauteil das Beleuchtungsmuster derart formen, dass dieses im wesentlichen die Form eines Tonnenkörpers, Quaders, Würfels oder die einer Kugel aufweist. Letztendlich ist die Form des jeweiligen Beleuchtungsmusters an die Randbedingungen der applikativen Anwendung anzupassen, beispielsweise mit dem Ziel einer maximalen Auflösung bei maximalem Signal-zu-Rausch-Verhältnis.

In ganz besonders vorteilhafter Weise ist das Beleuchtungsmuster des weiteren Beleuchtungsstrahlengangs komplementär zum Beleuchtungsmuster des Beleuchtungsstrahlengangs ausgebildet, so dass eine Auflösungserhöhung in allen Raumrichtungen möglich ist.

Insbesondere für die quantitative Auswertung ist ein in allen Raumrichtungen isotropes Beleuchtungsmuster von großem Vorteil, da die hierdurch gewonnenen Objektbilder in allen Raumrichtungen die gleiche Auflösung und somit eine äquidistante Pixelgröße aufweisen.

Zur Maximierung des Signal-zu-Rausch-Verhältnisses ist vorgesehen, dass das Beleuchtungsmuster derart ausgebildet ist, dass es zumindest weitgehend eine homogene Intensitätsverteilung aufweist. Hierdurch werden die Fluoreszenzmoleküle, die von dem Beleuchtungsmuster mit Licht beaufschlagt werden mit gleicher Intensität zur Fluoreszenz angeregt bzw. die Fluoreszenzmoleküle, die mit dem weiteren Beleuchtungsmuster zur stimulierten Emission angeregt werden, werden mit der gleichen Übergangswahrscheinlichkeit in den Grundzustand überführt. Hierzu ist es vorgesehen, dass die Intensitätsverteilung des Beleuchtungsmusters im Randbereich stark abfällt, so dass ein möglichst scharfer Übergang von dem zu messenden Bereich zu dem stimulierten Bereich gegeben ist.

Es gibt nun verschiedene Möglichkeiten, die Lehre der vorliegenden Erfindung in vorteilhafter Weise auszugestalten und weiterzubilden. Dazu ist einerseits auf die dem Patentanspruch 1 nachgeordneten Patentansprüche und andererseits auf die nachfolgende Erläuterung der bevorzugten Ausführungsbeispiele der Erfindung anhand der Zeichnung zu verweisen. In Verbindung mit der Erläuterung der bevorzugten Ausführungsbeispiele der Erfindung anhand der Zeichnung werden auch im allgemeinen bevorzugte Ausgestaltungen und Weiterbildungen der Lehre erläutert. In der Zeichnung zeigen

Fig. 1 eine schematische Darstellung einer ersten erfindungsgemäßen Ausführungsform,

Fig. 2 eine schematische Darstellung einer weiteren Ausführungsform und

Fig. 3 eine schematische Darstellung einer weiteren Ausführungsform.

Die Fig. 1 zeigt eine Vorrichtung zur Beleuchtung eines Objekts 1 bei der konfokalen Fluoreszenz-Rastermikroskopie. Das Fluoreszenz-Rastermikroskop weist einen Beleuchtungsstrahlengang 2 einer Lichtquelle 3 auf, der zur punktförmigen Fluoreszenzanregung des Objekts 1 dient. Zur stimulierten Emission von Fluoreszenzmolekülen in einem wohl definierten Objektbereich dient ein weiterer Beleuchtungsstrahlengang 4 einer weiteren Lichtquelle 5, wobei die Beleuchtungsstrahlengänge 2, 4 einander überlagerbar sind. Die beiden Beleuchtungsstrahlengänge 2, 4 werden mit

Hilfe des Strahlteilers 6 zusammengeführt.

Erfindungsgemäß ist in dem Beleuchtungsstrahlengang 4 ein optisches Bauteil 7 angeordnet, dass das Licht des Beleuchtungsstrahlengangs 4 verändert. Die optischen Eigenschaften des Bauteils 7 sind derart beeinflussbar bzw. veränderbar, dass sich das Beleuchtungsmuster des Beleuchtungsstrahlengangs 4 im Objektbereich in seiner Form verändert.

Das optische Bauteil 7 ist in einer zur Fokusebene des Objektivs 8 konjugierten Fourierebene angeordnet.

Das optische Bauteil 7 verändert die Phase sowie die Amplitude des Lichts und ist als durchleuchtendes Bauteil ausgeführt.

Bei dem optischen Bauteil 7 handelt es sich um ein LCD-Element, das pixelweise die Phase des auftreffenden Lichts um  $\lambda/2$  verzögert. Somit können in Abhängigkeit der Beschaltung des LCD-Elements einzelne Ortsfrequenzen um  $\lambda/2$  phasenverzögert und darüber hinaus in ihrer Amplitude abgeschwächt werden. Durch die Phasen- bzw. Amplitudenveränderung des weiteren Beleuchtungsstrahlengangs 4 durch das optische Bauteil 7 wird das Beleuchtungsmuster des weiteren Beleuchtungsstrahlengangs 4 im Objektbereich in seiner Form verändert.

Die Fig. 2 zeigt eine alternative Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung. Hierbei ist das optische Bauteil als deformierbarer Spiegel 9 ausgeführt, der als reflektierendes Bauteil in dem weiteren Beleuchtungsstrahlengang 4 angeordnet ist. Der deformierbare Spiegel 9 ist mit Hilfe der Piezoaktoren 10 verstellbar.

Die Fig. 3 zeigt eine zur Fig. 2 alternative Ausführungsform der erfindungsgemäßen Vorrichtung. Licht der Lichtquelle 5 trifft auf den Strahlteilerwürfel 11 und wird in Richtung der schematisch gezeigten Aufweitungsoptik 12 reflektiert. Nach Durchlaufen des als LCD-Element ausgeführten optischen Bauteils 7 trifft das Licht des weiteren Beleuchtungsstrahlengangs 4 auf den Spiegel 13, der das Licht durch das optische Bauteil 7, die Aufweitungsoptik 12, den Strahlteilerwürfel 11 zu dem Strahlteiler 6 reflektiert. Am Strahlteiler 6 wird der weitere Beleuchtungsstrahlengang 4 mit dem Beleuchtungsstrahlengang 2 der Lichtquelle 3 zusammengeführt.

Die Veränderung der optischen Eigenschaften des Bauteils 7 ist bei dieser Ausführungsform mit vorgebbaren Ereignissen synchronisierbar. Das optische Bauteil 7 ist über das gestrichelt eingezeichnete Synchronisationsmittel 14 mit der gepulsten Laserlichtquelle 5 und mit der Laserlichtquelle 3 verbunden. In Abhängigkeit der Pulsfolge des gepulsten Lasers 5 kann das optische Bauteil 7 beschalten werden. Über das gestrichelt eingezeichnete Synchronisationsmittel 15 ist das optische Bauteil 7 mit der Scaneinrichtung 16 verbunden. Hierüber ist eine Synchronisation der Scaneinrichtung 16 mit dem optischen Bauteil 7 möglich. In gleicher Weise ist das optische Bauteil 7 über das gestrichelt eingezeichnete Synchronisationsmittel 17 mit dem Detektor 18 verbunden.

In den Fig. 1 bis 3 wirkt das optische Bauteil 7 auf den gesamten weiteren Beleuchtungsstrahlengang 4. In den Fig. 1 bis 3 ist das Anregungspinhole 19 des Beleuchtungsstrahlengangs 2 sowie das Detektionspinhole 20 des Detektionsstrahlengangs 21 eingezeichnet. Die Beleuchtungsstrahlengänge 2, 4 werden von dem Detektionsstrahlengang 21 mit Hilfe des Strahlteilers 22 voneinander getrennt.

Abschließend sei ganz besonders darauf hingewiesen, dass die voranstehend erörterten Ausführungsbeispiele lediglich zur Beschreibung der beanspruchten Lehre dienen, diese jedoch nicht auf die Ausführungsbeispiele einschränken.

## Bezugszeichenliste

- 1 Objekt
- 2 Beleuchtungsstrahlengang
- 3 Lichtquelle von (2)
- 4 weiterer Beleuchtungsstrahlengang
- 5 Lichtquelle von (4)
- 6 Strahlteiler
- 7 optisches Bauteil
- 8 Objektiv
- 9 deformierbarer Spiegel
- 10 Piezoaktoren von (9)
- 11 Strahlteilerwürfel
- 12 Aufweitungsoptik
- 13 Spiegel
- 14 Synchronisationsmittel zwischen (5, 3) und (6)
- 15 Synchronisationsmittel zwischen (6) und (15)
- 16 Scaneinrichtung
- 17 Synchronisationsmittel zwischen (17) und (6)
- 18 Detektor
- 19 Anregungspinhole
- 20 Detektionspinhole
- 21 Detektionsstrahlengang
- 22 Strahlteiler

## Patentansprüche

1. Vorrichtung zur Beleuchtung eines Objekts (1), vorzugsweise bei der konfokalen Fluoreszenz-Rastermikroskopie, mit einem Beleuchtungsstrahlengang (2) einer Lichtquelle (3) und mindestens einem weiteren Beleuchtungsstrahlengang (4) einer weiteren Lichtquelle (5), wobei die Beleuchtungsstrahlengänge (2, 4) zumindest teilweise einander überlagerbar sind, **dadurch gekennzeichnet**, dass mindestens in einem der Beleuchtungsstrahlengänge (2, 4) mindestens ein optisches Bauteil (7) angeordnet ist und das Licht verändert, und dass die optischen Eigenschaften des Bauteils (7) derart beeinflussbar bzw. veränderbar sind, dass sich das Beleuchtungsmuster des Beleuchtungsstrahlengangs (2, 4) im Objektbereich in seiner Form verändert.
2. Vorrichtung nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, dass ein optisches Bauteil (7) im Detektionsstrahlengang angeordnet ist.
3. Vorrichtung nach Anspruch 1 oder 2, dadurch gekennzeichnet, dass das optische Bauteil (7) in einer zur Fokusebene des Objektivs (8) konjugierten Fourierebene angeordnet ist.
4. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 3, dadurch gekennzeichnet, dass das optische Bauteil (7) die Phase des Lichts verändert.
5. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 4, dadurch gekennzeichnet, dass das optische Bauteil (7) die Amplitude des Lichts verändert.
6. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 5, dadurch gekennzeichnet, dass das optische Bauteil (7) die Polarisation des Lichts verändert.
7. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, dass das optische Bauteil (7) als durchleuchtendes oder als reflektierendes Bauteil ausgeführt ist.
8. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 7, dadurch gekennzeichnet, dass das optische Bauteil (7) als adaptive Optik ausgeführt ist.
9. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass das optische Bauteil (7) als LCD (Liquid Crystal Device) ausgeführt ist.

10. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass das optische Bauteil (7) als Farb-LCD ausgeführt ist.
11. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass das optische Bauteil (7) als mikromechanisches System ausgeführt ist. 5
12. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass das optische Bauteil (7) als DMD (Digital Micro-Mirror) ausgeführt ist.
13. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass das optische Bauteil (7) als GLV (Grating Light Valve) ausgeführt ist. 10
14. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 8, dadurch gekennzeichnet, dass das optische Bauteil (7) als deformierbarer Spiegel (8) ausgeführt ist. 15
15. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 14, dadurch gekennzeichnet, dass die Veränderung der optischen Eigenschaften des optischen Bauteils (7) mit vorgebbaren Ereignissen synchronisierbar ist.
16. Vorrichtung nach Anspruch 15, dadurch gekennzeichnet, dass das optische Bauteil (7) mit der Intensitätsmodulation oder der Pulsfolge der Lichtquelle und/oder mit der Scaneinrichtung (16) des Rastermikroskops und/oder mit der Detektoreinrichtung (18) des Rastermikroskops synchronisierbar ist. 20 25
17. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 16, dadurch gekennzeichnet, dass das optische Bauteil (7) auf den gesamten Beleuchtungsstrahlengang oder auf einen Teil des Beleuchtungsstrahlengangs wirkt.
18. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 17, dadurch gekennzeichnet, dass das Beleuchtungsmuster des Beleuchtungsstrahlengangs (2) und/oder des weiteren Beleuchtungsstrahlengangs (4) zu definierten Formen, insbesondere in die Form eines Torus, Tonnenkörpers, Quaders, Würfels, Doppelkegels oder einer Sphäre, formbar ist. 30 35
19. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 20, dadurch gekennzeichnet, dass das Beleuchtungsmusters in allen Raumrichtungen isotrop ist.
20. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 1 bis 18, dadurch gekennzeichnet, dass das Beleuchtungsmuster derart ausgebildet ist, dass es zumindest weitgehend eine homogene Intensitätsverteilung aufweist.
21. Vorrichtung nach Anspruch 19, dadurch gekennzeichnet, dass die Intensitätsverteilung des Beleuchtungsmusters im Randbereich stark abfällt. 40 45

---

Hierzu 3 Seite(n) Zeichnungen

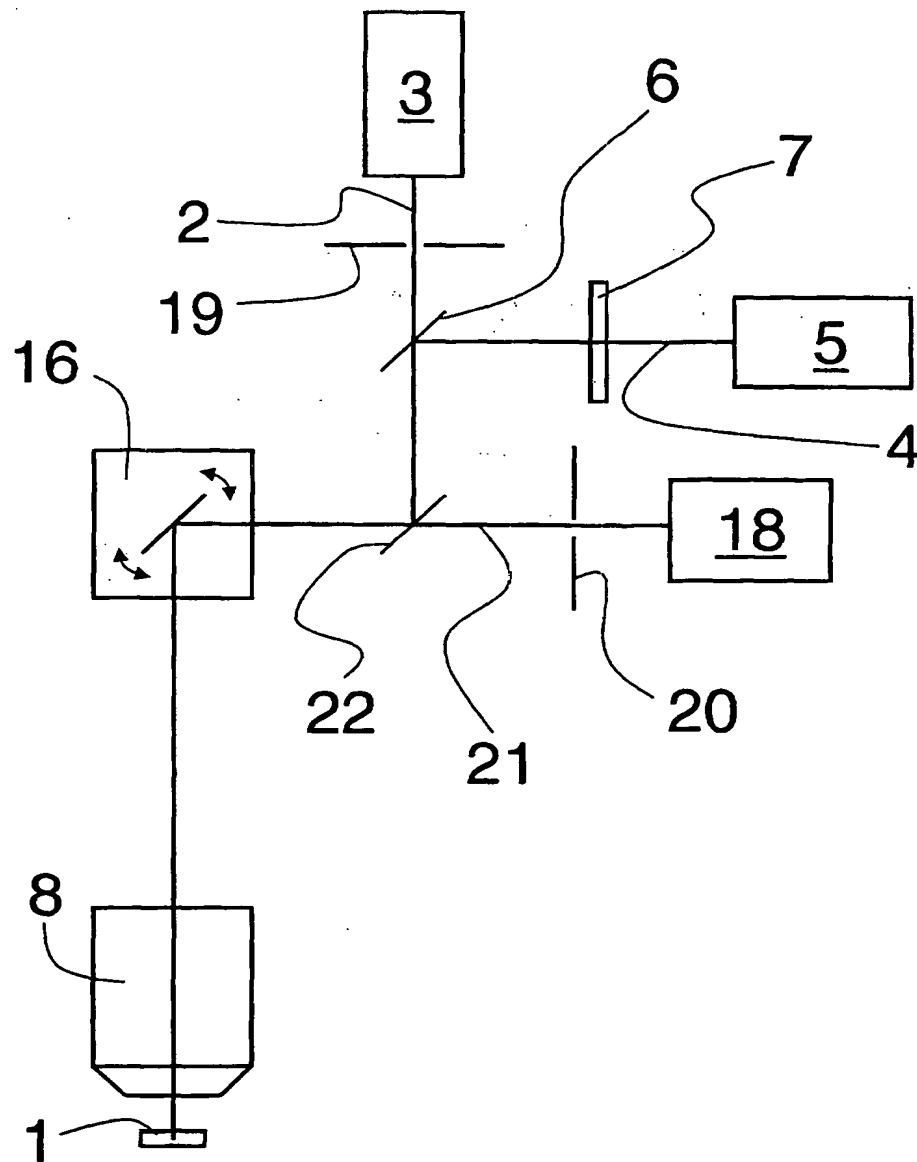
---

50

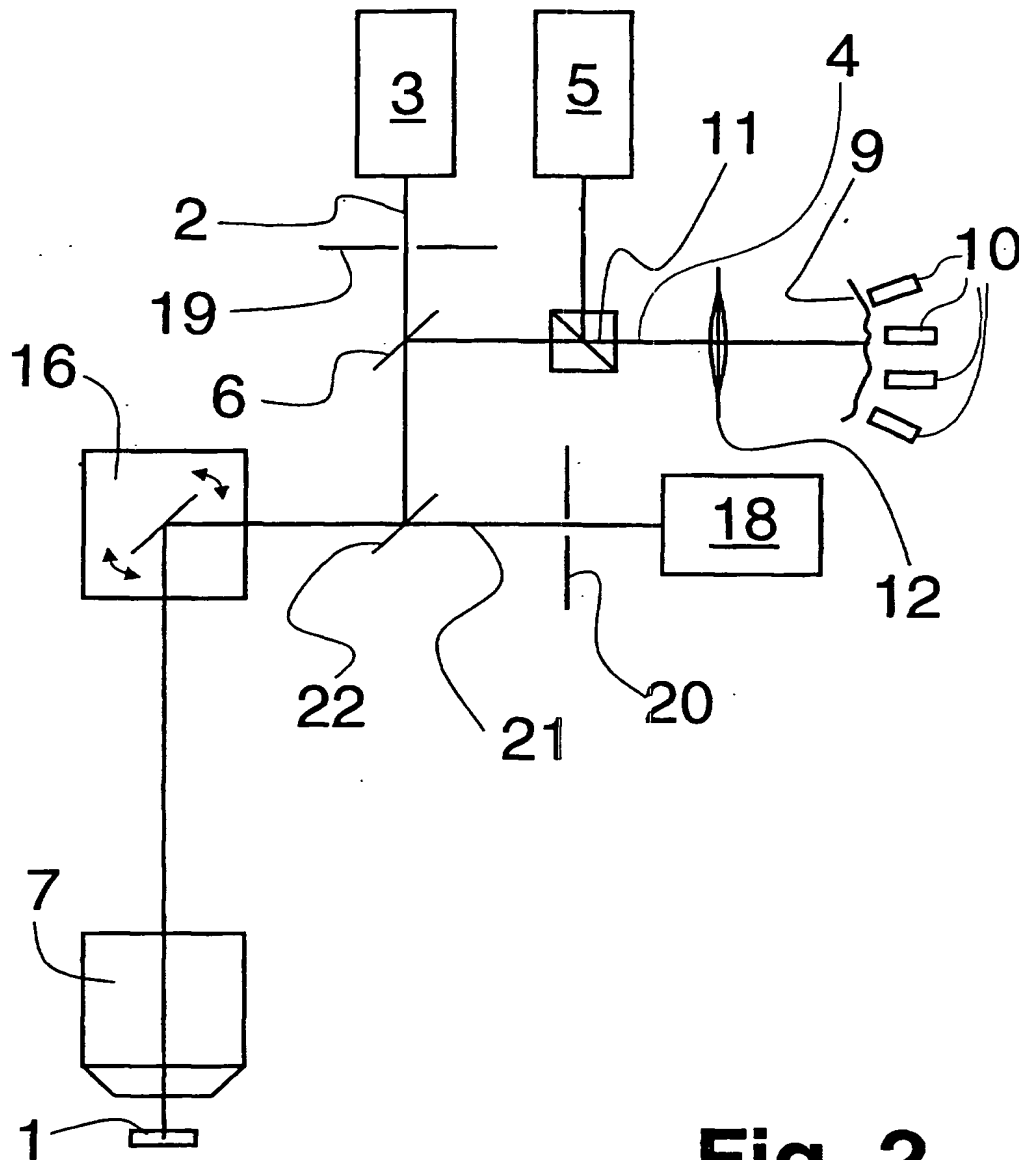
55

60

65

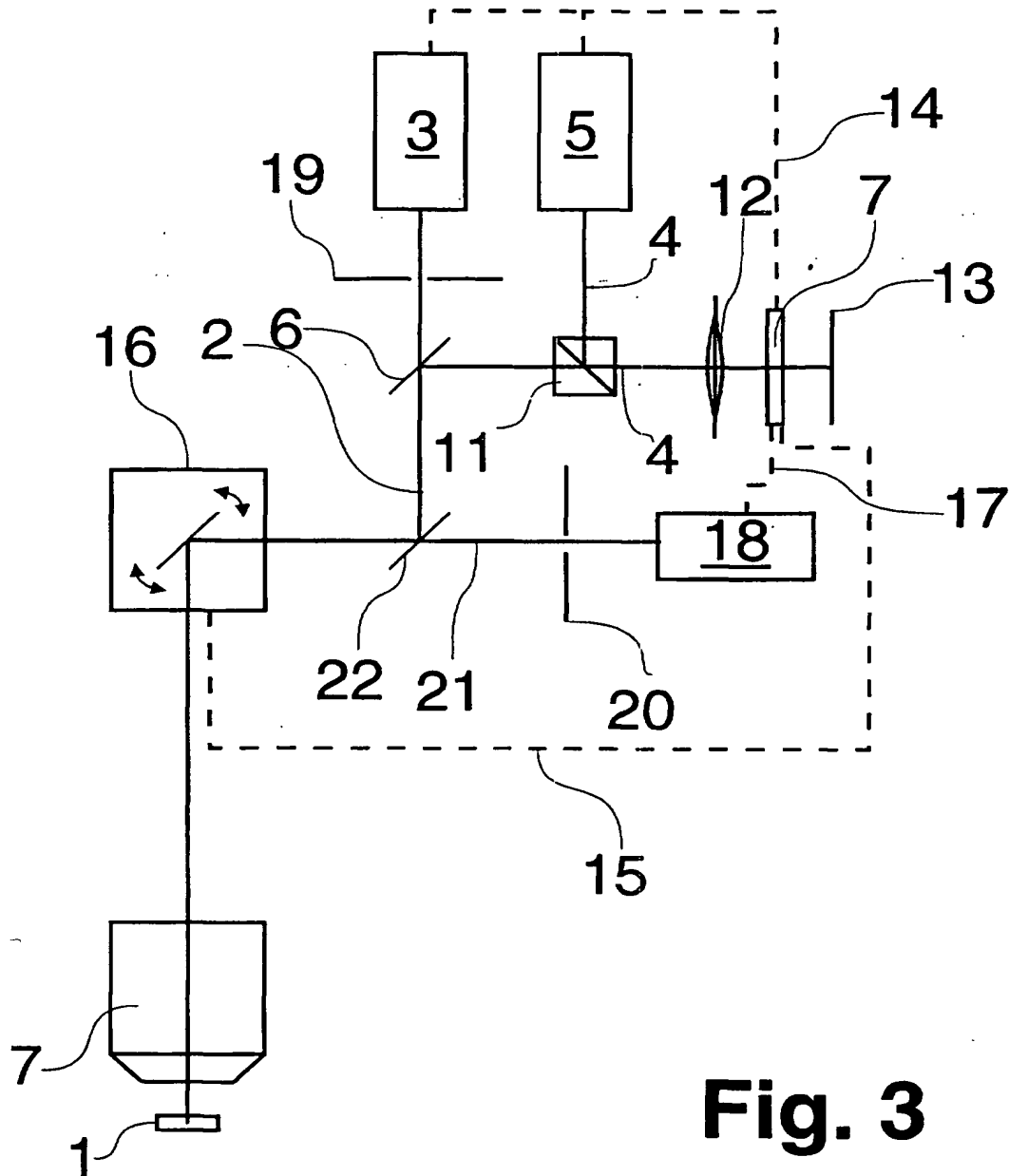


**Fig. 1**



### Fig. 2





**Fig. 3**